

4/7/2

DIALOG(R)File 352:Derwent WPI  
(c) 2002 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

007649139

WPI Acc No: 1988-283071/198840

Prodn. of glucose-1-phosphate - by treating dextrin and orthophosphate  
with phosphorylase, useful as antibacterial, antitumour drugs etc.

Patent Assignee: KAO CORP (KAOS )

Number of Countries: 001 Number of Patents: 002

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 63208594	A	19880830	JP 8743759	A	19870226	198840 B
JP 94095942	B2	19941130	JP 8743759	A	19870226	199501

Priority Applications (No Type Date): JP 8743759 A 19870226

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
-----------	------	-----	----	----------	--------------

JP 63208594	A		7		
-------------	---	--	---	--	--

→JP 94095942 B2 4 C12P-019/02 Based on patent JP 63208594 ✓

Abstract (Basic): JP 63208594 A

In the prodn. of glucose-1-phosphate (G-1-P) by treatment of  
alpha-glucan and orthophosphate with a phosphorylase, the improvement  
comprises using dextrin having a DE value (dextrose equiv.) of 0.5-20  
as the alpha-glucan.

G-1-P can be prepd. by (1) dissolving dextrin with DE value of  
0.5-20 in water at 10-100 deg.C (pref. 20-40 deg.C) and adding a 0.01-4  
mol/L orthophosphate soln., (2) dissolving dextrin with DE value of  
0.5-20 in 0.01-4 mol/L aq. orthophosphate soln. of 10-100 deg.C (pref.  
20-40 deg.C), adjusting the pH with an alkali soln., adding a  
phosphorylase derived from animals, vegetables, or microorganisms and  
reacting the mixt. at 10-50 deg.C, pref. 25-45 deg.C or (3) dissolving  
dextrin with DE value of 0.5-20 in a phosphoric acid soln. of 10-100  
deg.C (pref. 20-40 deg.C), adjusting the pH of the soln. with alkali,  
adding phosphorylase derived from animals, vegetables or microorganisms  
and reacting the mixt. at 10-50 deg.C, pref. 25-40 deg.C. Dextrin with  
DE value of 0.5-20 can be prepd. by chemical or enzymatic degradation  
of starch or glycogen. The DE value can be determd. by Somogy method as  
described in J. Biol. Chem. 195, 19 (1952).

USE/ADVANTAGE - G-1-P is useful for antibacterial agents,  
antitumour agents or drugs acting on circulatory system. The presence  
process gives G-1-P with low cost using simplified procedure.

0/0

Derwent Class: B03; D16

International Patent Class (Main): C12P-019/02

International Patent Class (Additional): C07F-009/09

?LOGOFF

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭63-208594

⑬ Int.Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和63年(1988)8月30日

C 07 F 9/09  
C 12 P 19/02

G-6917-4H  
7236-4B

審査請求 未請求 発明の数 1 (全7頁)

⑮ 発明の名称 グルコース-1-リン酸の製造法

⑯ 特 願 昭62-43759

⑰ 出 願 昭62(1987)2月26日

⑱ 発 明 者 茅 根 滋 人 和歌山県和歌山市西浜1450

⑲ 発 明 者 黒 崎 富 裕 大阪府泉南郡岬町淡輪1465

⑳ 発 明 者 今 村 孝 和歌山県和歌山市西浜1450

㉑ 出 願 人 花 王 株 式 会 社 東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番10号

㉒ 代 理 人 弁 理 士 有 賀 三 幸 外2名

→ 特許 6-95942

明 細 書

1 発明の名称

グルコース-1-リン酸の製造法

2 特許請求の範囲

1.  $\alpha$ -グルカンとオルトリン酸塩とからホスホリラーゼを用いてグルコース-1-リン酸を製造する方法において、 $\alpha$ -グルカンとしてDE価0.5~2.0のデキストリンを用いることを特徴とするグルコース-1-リン酸の製造法。

3 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、グルコース-1-リン酸の製造法に関し、更に詳細には解糖系の初期化合物であり、例えば、医薬用抗菌剤、抗腫瘍剤

(白金錯体)、心臓病の治療薬(アミン塩)

として有用なグルコース-1-リン酸の有利な製造法に関する。

(従来の技術及びその問題点)

従来、グルコース-1-リン酸(以下「G-1-P」と略称する)の製造法としてはホスホリラーゼの酵素触媒作用により $\alpha$ -グルカン(種々のデンプン、グリコーゲン)とオルトリン酸塩とから製造する方法が種々知られている。例えば、家兎筋肉抽出液を酵素液としてグリコーゲンから製造する方法(Coriら J. Biol. Chem. 121 465 (1937))、ポテトの汁を酵素液としてデンプンから製造する方法(C. S. Haas Proc. Roy. Soc. B 129 174 (1940))等がある。具体的には $\alpha$ -

グルカンとオルトリン酸塩を基質とし、これにホスホリラーゼを作用させてG-1-Pを合成し、未反応オルトリン酸塩を $\text{MgNH}_4\text{PO}_4$ 、 $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$ 、 $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ 、 $\text{Li}_3(\text{PO}_4)_2$ 等の不溶塩にして除去した後、イオン交換樹脂を使用したりアルコール再沈したりして未反応グルカンを除きG-1-Pを製造するものである。

本発明者らは既にG-1-Pの製造において、回収したオルトリン酸塩が再利用可能な、コスト的にも有利な電気透析によるオルトリン酸塩の分離・回収法を開発している。この分離法を用いさらにコスト的にも有利にG-1-Pを製造するには、製造されたG-1-P溶液のG-1-P含量が高いほど電気透析の処理費が安くなるので、G-1-Pを高濃度

ン酸塩との反応について、特に、用いる $\alpha$ -グルカンについて鋭意研究をおこなった結果、特定のデキストリンは水に対する溶解度が高く、しかもその高濃度溶液の粘度も高くないこと、したがって上記反応における $\alpha$ -グルカンとして好適に用いられることを見出し、本発明を完成した。

すなわち本発明は、 $\alpha$ -グルカンとオルトリン酸塩とからホスホリラーゼを用いてG-1-Pを製造する方法において、 $\alpha$ -グルカンとしてDE価0.5~2.0のデキストリンを用いることを特徴とするG-1-Pの製造法を提供するものである。

本発明において用いるデキストリンは、DE価が0.5~2.0のものであり、特に3~1.5

で製造することが必要とされていた。

しかし、従来の方法においては、基質である $\alpha$ -グルカンとして種々のデンプン、グリコーゲン等が用いられるが、これら化合物は、それ自体水に対する溶解度が低かつたり、高濃度溶液とした場合に粘度が上昇する等の問題があり、この結果、高濃度でG-1-Pを製造することは困難であつた。

従つて、ホスホリラーゼ存在下での $\alpha$ -グルカンとオルトリン酸塩からのG-1-P製造において、G-1-Pを高濃度で製造が可能な反応系の開発が望まれていた。

〔問題を解決するための手段〕

かかる実情において本発明者らは、ホスホリラーゼ存在下での $\alpha$ -グルカンとオルトリ

のものが好ましい。ここで用いるDE

(Dextrose Equivalent) 価とは、糖化の進行程度を示す指標であり、次の式

$$\text{DE価} = \frac{\text{直接還元糖 (グルコースとして表示)}}{\text{全固形分}} \times 100$$

で示される。そして、デキストリンについてのDE価は、直接還元糖をソモジー (Somogy) 法 (J. Biol. Chem. 195 19 (1952)) により測定し、算出される。

本発明において用いるデキストリンは上記に示すDE価のものであるが、その理由はDE価が0.5以下のデキストリンを使用した場合数%の濃度で反応液の粘度が上昇し、また、DE価が2.0以上のデキストリンを使用した場合は酵素反応性が悪く、いずれの場合も高

特開昭63-208594(3)

収量でG-1-Pを製造することができないためである。

本発明に使用されるDE価0.5~2.0のデキストリンは、デンプンもしくはグリコーゲンを化学的に分解したもので、また $\alpha$ -アミラーゼ、イソアミラーゼ等の酵素で分解したもののいずれでもよい。

本発明方法は $\alpha$ -グルカンとしてDE価0.5~2.0のデキストリンを用いる以外は、公知のホスホリラーゼを用いるG-1-Pの製造法に従い実施することができる。

具体的には、例えばDE価0.5~2.0のデキストリンを10~100℃、好ましくは20~40℃の水に溶解し、そこに0.01~4 mol/lのオルトリン酸塩水溶液を加える

本発明のG-1-Pの製造方法はDE価0.5~2.0のデキストリンを使用する為、デキストリンの溶解度がデンプン、グリコーゲンに比べ高く、高濃度での反応が可能となり、G-1-Pの生産収量を増加できるためコスト的に有利なものである。且つまた、デキストリンの溶解度が高いことから、通常必要とされるデキストリンの加熱溶解が不必要であり、製造工程を簡略化でき、より一層コスト的に有利なものである。

〔実施例〕

次に実施例を挙げて説明する。なお、以下の実施例で用いる各DE価のデキストリンは次の方法により調製した。

(デキストリンの調製)

か、もしくはデキストリンを1~10℃、好ましくは2~4℃の0.1~4 mol/lのオルトリン酸塩水溶液に溶解するか、もしくはデキストリンを10~100℃、好ましくは20~40℃のリン酸溶液に溶解したのち、アルカリ溶液でpHを調整して得た溶液に、動物、植物、微生物等から得られたホスホリラーゼもしくはその含有物を加え、10~50℃、好ましくは25~40℃で反応せしめることによりG-1-Pが製造される。

上記反応におけるその他の条件、つまり反応時間、pH、防腐剤、添加剤、攪拌の有無等は目的に応じて設定すればよい。

〔発明の効果〕

ポタトデンプン100gをイオン交換水200mlに懸濁し、煮沸浴にてのり化する。これを50℃、pH 4.5に調整し $\alpha$ -アミラーゼを加え反応を行い、時々サンプリングにより直接還元糖の量を測定し、目的のDE価になつたときに煮沸し、反応を終了させる。次いでろ過により不溶物を除いた後、さらに煮沸浴にて水分を蒸発させ水飴状にする。500mlのエタノールを加えデキストリンを析出させ、ろ過後真空乾燥により目的のDE価のデキストリン82~95gを得た。

実施例1

DE価3.97のデキストリン15gを、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  38g及び $\text{K}_2\text{HPO}_4$  56gを溶解した水溶液200mlに25℃で溶解する。これに、

ポテト 3 g をジューサーでつぶし、遠心分離して得たポテトのすり汁 95 ml および防腐剤としてのトルエン 1 ml とを加え、イオン交換水で 300 ml に調整後、40℃で48時間反応させた。その結果、1189 mmol / L の G-1-P を得た。

#### 実施例 2

DE 価 287 のデキストリン 15 g を、  
KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 38 g、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 56 g を溶解した水溶液 200 ml に 25℃で溶解する。これに、ポテト 300 g をジューサーでつぶし遠心分離して得たポテトのすり汁 95 ml および防腐剤としてのトルエン 1 ml を加え、イオン交換水で 300 ml に調整後 40℃で48時間反応させた。その結果、1186 mmol / L の G-

ポテト 10 g から公知の方法 (中野憲一、福井俊郎：澱粉科学, 24, 80 (1977)) で酵素ホスホリラーゼを抽出・精製し濃縮した溶液 1.5 ml (ホスホリラーゼ活性 2089 U / ml) および防腐剤としてのトルエン 1 ml を加え、イオン交換水で 30 ml に調整後 40℃で24時間反応させた。その結果 210 mmol / L の G-1-P を得た。

#### 実施例 5

DE 価 397 のデキストリン 6 g を、  
KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 38 g、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 56 g を溶解した水溶液 20 ml に 27℃で溶解する。これにポテト 10 g から公知の方法 (中野憲一、福井俊郎：澱粉科学, 24, 80 (1977)) で酵素ホスホリラーゼを抽出・精製し、濃縮した

1-P を得た。

#### 実施例 3

DE 価 1126 のデキストリン 15 g を、  
KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 38 g 及び K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 56 g を溶解した水溶液 200 ml に 25℃で溶解する。これに、ポテト 300 g をジューサーでつぶし、遠心分離して得られたポテトのすり汁 95 ml および防腐剤としてのトルエン 1 ml を加え、イオン交換水で 300 ml に調整後、40℃で48時間反応させた。その結果、1108 mmol / L の G-1-P を得た。

#### 実施例 4

DE 価 397 のデキストリン 3 g を、  
KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 38 g 及び K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 56 g を溶解した水溶液 20 ml に 27℃で溶解する。これにポテト 10 g から公知の方法 (中野憲一、福井俊郎：澱粉科学, 24, 80 (1977)) で酵素ホスホリラーゼを抽出・精製し、濃縮した溶液 1.5 ml (ホスホリラーゼ活性 2089 U / ml) および防腐剤としてのトルエン 1 ml を加え、イオン交換水で 30 ml に調整後 40℃で24時間反応させた。その結果、214 mmol / L の G-1-P を得た。

#### 実施例 6

DE 価 1126 のデキストリン 9 g を、  
KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 57 g 及び K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 84 g を溶解した水溶液 20 ml に 27℃で溶解する。これに、ポテト 10 g から公知の方法 (中野憲一、福井俊郎：澱粉科学, 24, 80 (1977)) で酵素ホスホリラーゼを抽出・精製し、濃縮した溶液 1.25 ml (ホスホリラーゼ活性 2418 U / ml) および防腐剤としてのトルエン 1 ml を加え、イオン交換水で 30 ml に調整後 40

特開昭63-208594 (B)

てで24時間反応させた。その結果、23 mmol / L の G-1-P を得た。

実施例7

DE 値397のデキストリン3gをイオン交換水約90mlに28℃で溶解する。これに、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  9.5g及び $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1.4gを含有した100mlの水溶液とポタト300gをジューサーでつぶし、遠心分離して得たポタトのすり汁100mlと、防腐剤としてのトルエン1mlとを加え、イオン交換水で300mlに調整後40℃で24時間反応させた。その結果361 mmol / L の G-1-P を得た。

実施例8

DE 値787のデキストリン3gをイオン交換水約90mlに28℃で溶解する。これに、

調整後、40℃で24時間反応させた。その結果333 mmol / L の G-1-P を得た。

比較例1

ポタトデンプンと本発明で用いるデキストリンの溶解度、粘度、反応性について測定し比較した。ポタトデンプンは和光純薬工業株式会社の一般試薬を使用した。

溶解度

溶解度は24℃においてイオン交換水100mlに溶解する重量(%)とした。

ポタトデンプン	不 溶
デキストリン(DE397)	60.4

粘 度

粘度は40℃においてB型粘度計にて測定

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  9.5g及び $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1.4gを含有した100mlの水溶液と、ポタト300gをジューサーでつぶし、遠心分離して得たポタトのすり汁100mlと、防腐剤としてのトルエン1mlとを加え、イオン交換水で300mlに調整後、40℃で24時間反応させた。その結果369 mmol / L の G-1-P を得た。

実施例9

DE 値1126のデキストリン3gをイオン交換水約90mlに28℃で溶解する。これに、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  9.5g及び $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1.4gを含有した100mlの水溶液とポタト300gをジューサーでつぶし、遠心分離して得たポタトのすり汁100mlと、防腐剤としてのトルエン1mlとを加えイオン交換水で300mlに

した。

濃 度 (%)	10	20	30
ポタトデンプン	ゲル化*	ゲル化*	ゲル化*
デキストリン(DE397)	10cP	23cP	70cP

\*ゲル化のため測定不可

反応性

反応性に関しては、デキストリンもしくはポタトデンプン1～10%、オルトリン酸塩15 mmol / L の条件下で反応させたときに得られたG-1-P量 (mmol / L) で比較した。具体的には、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  28.6g及び $\text{K}_2\text{HPO}_4$  4.1gを含有する水溶液150mlに本発明のデキストリン3～30gを28℃で溶解し、これにポタト300gをジューサーでつぶし



遠心分離して得たポタトのすり汁1 mlおよび防腐剤としてのトルエン1 mlを加え、イオン交換水で300 mlに調整後40℃で反応させG-1-Pを製造した。一方、ポタトデンプンは3~30 gを約100 mlのイオン交換水に懸濁させ、煮沸浴中で溶解させ室温で冷却する。これにイオン交換水100 ml、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  28 gおよび $\text{K}_2\text{HPO}_4$  418 gを加え溶解し、これにポタト300 gをジューサーでつぶし遠心分離して得たポタトのすり汁100 mlおよび防腐剤としてのトルエン1 mlを加え、イオン交換水で300 mlに調整後40℃で反応させた。なお得られたG-1-P量は、経時的に測定しG-1-P量が変化しなくなつたところの値とした。

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  38 gおよび $\text{K}_2\text{HPO}_4$  56 gを溶解した溶液200 mlに懸濁し、煮沸浴中で溶解し冷却後、これにポタト300 gをジューサーでつぶし、遠心分離して得たポタトのすり汁95 mlと防腐剤としてのトルエン1 mlとを加え、300 mlに調整後40℃で48時間反応させた。得られたG-1-P量は以下のとおりであり、本発明範囲外のDE価を有するデキストリンを用いても良い結果は得られない。

デキストリンのDE価	合成G-1-P (mmol/L)
Q28	反応不可*
397 (実施例1)	1189

\* 反応液がゲル化。

濃度 (%)	1	3	5	10
ポタトデンプン	317	944	•	•
デキストリン (DE397)	406	1038	1598	1807

\* 反応液がゲル化し反応不可。

以上の結果から、本発明のデキストリンを用いることによりG-1-P収量が増加し、コスト的に有利にG-1-Pを製造することが可能となることが明らかである。また、デキストリンを用いることによつてα-グルカンの溶解に加熱処理が不要となり、G-1-P製造工程の簡略化が可能となつた。

#### 比較例2

DE価Q28のデキストリン15 gを、

#### 比較例3

DE価21のデキストリン15 gを $\text{KH}_2\text{PO}_4$  38 gおよび $\text{K}_2\text{HPO}_4$  56 gを溶解した溶液200 mlに25℃で溶解する。これにポタト300 gをジューサーでつぶし遠心分離して得たポタトのすり汁95 mlと防腐剤としてのトルエン1 mlとを加え、300 mlに調整後、40℃で48時間反応させた。得られたG-1-P量は以下のとおりである。

デキストリンのDE価	合成G-1-P (mmol/L)
21	47.1
1126 (実施例3)	1108

特開昭63-208594(7)

以上の結果からDE値0.5~2.0のデキス  
トリンを用いることによりO-1-P収量が増加することがわかった。

以 上

出願人 花 王 株 式 会 社

代理人 弁護士 有 賀 三 幸

弁護士 高 野 登志雄

弁護士 小 野 信 夫